

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**OCURRENCIA DE MASTITIS CLÍNICA EN LACTANCIA TEMPRANA DE ACUERDO
A LA CATEGORÍA ANIMAL Y CONDICIÓN CORPORAL EN VACAS LECHERAS EN
PREDIOS COMERCIALES**

por

CABRERA SANTEUGINI, Elena Sofía


TESIS DE GRADO, presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: ESTUDIO OBSERVACIONAL

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2022**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de mesa:



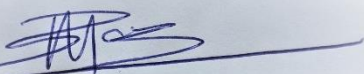
Dr. Álvaro González

Segundo miembro (Tutor):



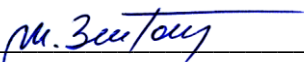
Dr. Joaquín Barca

Tercer miembro:



Dra. Mette Bouman

Cuarto miembro:



Dr. Mauricio Bentancor

Autor:



Br. Sofía Cabrera

Fecha: 18 de agosto de 2022

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Veterinaria por ser nuestro segundo hogar, que nos supo recibir con cariño y enseñar las herramientas para batallar el mañana, además de darnos buenas amistades, de las que duran toda la vida.

A mi Tutor Joaquín Barca por permitir que hiciera este trabajo, por el apoyo y la confianza, igual que mi Co-tutor Mauricio Bentancor, gracias por enseñarme y guiarme. Incluso en sus días de descanso, ellos siempre estuvieron, gracias por su paciencia y dedicación.

A todos los participantes del trabajo de campo y personal de cada uno de los tambos que participaron del estudio, por su calidez y generosidad, por su dedicación y compromiso, por su tiempo.

Al Laboratorio Lacto-Diagnóstico Sur (LDS) por la paciencia y eficacia, devolviendo los análisis con rapidez.

A Ana Meikle, Paula Pessina e Isabel Sartore por siempre estar, por el cariño y la fuerza que me dieron desde un principio. Y todo el equipo del LEMA, siempre presente y pujante, fuente de inspiración, fuente de sabiduría.

A mis amigos que fueron apoyo incondicional en los momentos difíciles y supieron multiplicar las alegrías compartiendo los logros como si fueran de todos.

A mi familia, especialmente por darme la posibilidad de seguir mis estudios, alentarme y confiar en mí siempre, por el apoyo y el amor, por siempre estar. A ellos va dedicada la carrera completa.

Sofía

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
TABLA DE CONTENIDOS	4
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	6
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	10
2.1 Caracterización de la producción lechera en Uruguay	10
2.2 La vaca lechera durante el período de transición	10
2.3 Mastitis bovina	11
2.3.1 Patogénesis	11
2.3.2 Impacto a nivel productivo, reproductivo y descarte	12
2.3.3 Etiología	12
2.3.3.1 Clasificación en patógenos mayores y menores	13
2.3.3.2 Microorganismos contagiosos	13
2.3.3.3 Microorganismos ambientales	13
2.3.3.4 Epidemiología de los agentes causantes de mastitis en Uruguay	13
2.4 Mastitis clínica en lactancia temprana: asociación con la categoría animal	14
2.5 Mastitis clínica en lactancia temprana: asociación con la condición corporal.....	14
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVOS	16
4.1 Objetivo general	16
4.2 Objetivos específicos	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1 Localización	17
5.2 Caracterización de los predios	17
5.3 Animales y diseño experimental	17
5.4 Definición de mastitis clínica	17

5.5 Aislamientos microbianos.....	18
5.6 Identificación de microorganismos	18
5.7 Análisis estadístico	19
6. RESULTADOS	20
6.1 Estadística descriptiva	20
6.2 Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la categoría animal y condición corporal preparto	20
6.3 Bacteriología general	21
6.4 .1 Patógenos ambientales y contagiosos según la categoría animal	23
6.4 .2 Patógenos ambientales y contagiosos según la condición corporal.....	23
6.4 .3 Patógenos mayores y menores según categoría animal y condición corporal	24
7.DISCUSIÓN	25
8. CONCLUSIÓN	29
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Figura 1. Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la categoría animal.	20
Figura 2. Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la condición corporal preparto.....	21
Figura 3. Frecuencia de aislamientos en muestras de vacas con mastitis clínica.	22
Tabla 1. Descripción detallada de aislamientos según categoría animal y condición corporal.....	22
Figura 4. Frecuencia de patógenos ambientales y contagiosos acorde a la categoría animal.....	23
Figura 5. Frecuencia de patógenos ambientales y contagiosos acorde a la condición corporal preparto.....	24

RESUMEN

La mastitis bovina es una de las enfermedades inflamatorias más prevalentes y costosa en términos económicos que afecta a los sistemas de producción lechera. Estos costos, son explicados por la disminución de la producción y calidad de la leche, incremento en las tasas de descarte, costos por tratamientos y efectos ocultos principalmente sobre parámetros reproductivos. Por tal motivo, y sabiendo que la mastitis es una de las enfermedades de alta prevalencia para los rodeos lecheros uruguayos, nos planteamos como objetivo estudiar el efecto de la categoría animal y el efecto de la condición corporal (CC) preparto, sobre la ocurrencia de mastitis clínica (MC) en los primeros 30 días posparto. El experimento se llevó a cabo en 4 tambos comerciales de San José, Florida, Río Negro - Uruguay, utilizando vacas Holstein, con una base de alimentación semipastoril. Este estudio poblacional incluyó 1.144 animales ($n = 401$ vacas primíparas; $n = 743$ vacas multíparas), de las cuales se obtuvo muestra para bacteriología de los casos de MC observados durante los primeros 30 días posparto. La CC preparto fue evaluada entre -10 y -7 días en relación a la fecha probable de parto. El análisis estadístico fue realizado utilizando el software SAS (SAS Institute Inc. 2018. SAS1 University Edition, Cary, North Carolina: SAS Institute Inc). El número de animales acorde a la categoría animal y CC fue generado usando el procedimiento de frecuencia (PROC FREQ). Mediante un modelo de regresión logística (PROC GLIMMIX), se evaluó la asociación entre la ocurrencia de MC en los primeros 30 días posparto por categoría animal (primípara vs. multípara) y la CC preparto [sub-condición ($CC < 3$), óptima ($CC 3-3,5$) y sobre-condición ($CC > 3,5$)]. El efecto del rodeo fue incluido como aleatorio. La frecuencia de los microorganismos fue generada mediante el procedimiento de frecuencia (PROC FREQ) y la comparación entre grupos se realizó con el test univariado Chi cuadrado. Se detectó una asociación de la categoría animal, así como de la CC preparto sobre la ocurrencia de MC. La categoría multípara presentó una ocurrencia de MC mayor que la categoría primípara (19,7% vs. 13,9%; $P = 0,02$). Mientras que acorde a la CC preparto, los animales sobre-condicionados registraron más casos de MC que animales en condición óptima (19,3% vs. 12,8%, respectivamente, $P = 0,04$). Los patógenos se clasificaron según el impacto de los mismos en la glándula mamaria (mayores y menores) y según su principal origen de infección (ambiental y contagioso). Al analizar los aislamientos, encontramos una asociación entre la categoría animal y el origen de infección ($P = 0,005$). En vacas primíparas se encontró una ocurrencia de 30% ($n = 6$) de patógenos ambientales y un 70% ($n = 14$) de patógenos contagiosos, mientras que en multíparas se obtuvo una ocurrencia de 66.1% ($n = 37$) de patógenos ambientales y 33.9% ($n = 19$) de patógenos contagiosos. Las observaciones en el presente trabajo denotan que la categoría animal multípara presentó mayor ocurrencia de MC dentro de los primeros 30 días de lactancia que la categoría primípara. Los animales sobre-condicionados en el preparto presentaron mayor ocurrencia de MC en los primeros 30 días de lactancia que animales con una CC óptima. Entre tanto, la prevalencia de patógenos ambientales fue mayor en la categoría multípara. En la categoría primípara, los patógenos contagiosos fueron los más prevalentes.

Palabras clave: transición, paridad, movilización, inmunosupresión, mastitis bovina, bacteriología

SUMMARY

Prevalence of clinical mastitis in early lactation according to parity and body condition score in commercial dairy cows

Bovine mastitis is one of the most prevalent and costly inflammatory diseases that affects dairy production systems. These costs are explained by decreased milk production and milk quality, increased culling rates, treatment costs and hidden effects mainly on reproductive parameters. For these reasons, and knowing that mastitis is highly prevalent in Uruguayan dairy herds, we propose to study the effect of parity (primiparous *vs.* multiparous) and the effect of prepartum body condition score (BCS), on the occurrence of clinical mastitis (CM) in the first 30 days postpartum. The experiment was carried out in 4 commercial dairy farms in San José, Florida, Río Negro - Uruguay, using Holstein cows, with a grazing feeding base. The population study included 1,144 animals ($n = 401$ primiparous cows; $n = 743$ multiparous cows), from which a sample for bacteriology was obtained from CM cases observed during the first 30 days postpartum. Prepartum BCS was evaluated between -10 and -7 days in relation to the probable date of calving. Statistical analyses were carried out using the SAS software (SAS Institute Inc. 2018. SAS University Edition, Cary, North Carolina: SAS Institute Inc). The number of animals by parity and BCS was generated using the frequency procedure (PROC FREQ). Using a logistic regression model (PROC GLIMMIX), the association between the occurrence of CM in the first 30 days postpartum by parity (primiparous *vs.* multiparous) and the prepartum BCS (sub-condition (BC <3), optimal (BC 3-3.5), over-condition (BC > 3.5)). The effect of the farm was included as random. The frequency of the isolates was generated by the frequency procedure (PROC FREQ) and the comparison between groups was performed with the univariate Chi-square Test. The occurrence of CM during the first 30 days postpartum was associated with parity: the multiparous category presented a higher occurrence of CM than the primiparous category (19.7% *vs.* 13.9%; $P = 0.02$). Moreover, an association with the prepartum BCS was detected: over-conditioned animals recorded more cases of CM than animals in optimal condition (19.3% *vs.* 12.8%, respectively, $P = 0.04$). Pathogens isolated were classified according to the impact on the mammary gland (major and minor) and according to the origin of infection (environmental and contagious). When analyzing the isolates, we found an association between parity and the origin of infection ($P = 0.005$): in primiparous cows, an occurrence of 30% ($n = 6$) of environmental pathogens and 70% ($n = 14$) of contagious pathogens was found, while in multiparous cows an occurrence of 66.1% ($n = 37$) of environmental pathogens was obtained and 33.9% ($n = 19$) of contagious pathogens. This study indicates that the multiparous cows presented a higher occurrence of CM than primiparous cows. The over-conditioned at the prepartum had a higher occurrence of CM in the first 30 days of lactation than animals with an optimal BCS. Meanwhile, the prevalence of environmental pathogens was higher in the multiparous category, while in the primiparous category, contagious pathogens were the most prevalent.

Key words: transition, parity, mobilization, immunosuppression, bovine mastitis, bacteriology

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del periparto impactan negativamente sobre la rentabilidad de los sistemas lecheros, al disminuir el desempeño productivo y reproductivo de la vaca lechera y acortando su vida útil (Gröhn et al., 2003). En torno al 75 % de las enfermedades en las vacas lecheras ocurren en el primer mes después del parto (LeBlanc, Lissemore, Kelton, Duffield, y Leslie, 2006), en el período definido como lactancia temprana. Una de las patologías de mayor incidencia es la mastitis clínica (MC), que se caracteriza por cambios en la glándula mamaria y/o en la leche. Dentro de muchos factores, esta enfermedad es atribuible al desequilibrio energético que sufren las vacas previo al parto y a causa de ello una serie de trastornos metabólicos e inmunológicos los cuales terminan debilitando su salud (Ingvarsen y Andersen, 2000).

En la lactancia temprana algunos autores evalúan la asociación de factores pertenecientes a la vaca lechera con la aparición de casos de MC, uno de ellos es la categoría animal (De Vliegheer, Fox, Piepers, McDougall y Barkema 2012). Generalmente, durante la lactancia temprana, vacas primíparas presentan una mayor incidencia respecto de las multíparas (De Vliegheer et al., 2012). Sin embargo, los estudios reportados sobre este tema a nivel nacional son casi nulos. Recientemente, nuestro grupo ha reportado que la incidencia acumulada de MC durante los primeros 90 días en leche en un monitoreo que incluyó 5375 vacas de 13 rodeos en Uruguay, es menor en primíparas que en multíparas (Cruz et al., 2021).

Otro factor de la vaca que es interesante evaluar y vincular con la aparición de casos de MC en la lactancia temprana, es el estado de reservas corporales o condición corporal (CC) del animal durante el parto. Hasta ahora se ha intentado seleccionar genéticamente los animales en busca de aumentos en la producción lechera, pero esto ocasiona pérdida en la CC, lo cual influye negativamente en su salud (Roche et al., 2009). Roche et al. (2009) reportaron que vacas con CC > 3,5 (escala 1-5; Edmonson, Lean, Weaver, Farver y Webster, 1989) presentan más mastitis que vacas con CC moderada (3-3,5), asociado a un balance energético negativo (BEN) más pronunciado que impacta en el sistema inmune. Por otro lado, la asociación entre vacas con baja CC (< 3) y MC también se ha reportado (Loker et al., 2012). No se ha encontrado reportes al respecto en Uruguay.

2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.1 Caracterización de la producción lechera en Uruguay

La lechería en el Uruguay comenzó siendo de tipo familiar, conformada por tambos de pequeña escala y de a poco fueron transformándose en tambos de carácter comercial, de tamaño mediano a grande (más de 300 vacas lecheras). Durante las últimas dos décadas, el sector lechero uruguayo ha experimentado una reducción del número de productores del 33%, el área destinada a la lechería ha disminuido un 24% y en contraposición la producción total de leche aumentó un 63% (Dirección de Estadísticas Agropecuarias, DIEA, 2020). Este aumento productivo se explica en gran parte por aumentos en producción individual y en segundo lugar por mayor carga animal (Chilibroste, 2012). Esta marcada intensificación de la producción ha sido acompañada por cambios en la alimentación del rodeo lechero, en donde las reservas forrajeras (silos y fardos) y los concentrados cobraron mayor importancia (DIEA, 2020) Sin embargo, las pasturas en la dieta de los rodeos lecheros uruguayos no pierden su importancia, siendo uno de los países con menores costos de producción a causa de ello (Chilibroste, 2012).

Con el correr del tiempo los tambos uruguayos han evolucionado y han convertido sus vacas en verdaderas máquinas de producción de leche, las líneas genéticas se han seleccionado y se han dado las mejores condiciones para la expresión de sus caracteres productivos, exigiendo mayores rendimientos metabólicos que continuamente se ponen a prueba con la producción animal (Meikle et al., 2013). La línea entre la salud y la enfermedad se ha vuelto muy fina y fácil de traspasar, siendo la mastitis, los problemas podales y problemas reproductivos los que más frecuentemente se observan en nuestros rodeos lecheros (Cruz et al., 2021), especialmente en el período de transición.

2.2 La vaca lechera durante el período de transición

La producción de leche tiene un costo elevado para el animal, y es el período de transición - vaca gestante y no lactante a ser no gestante lactante - el momento crítico donde se generan los cambios metabólicos, endócrinos e inmunitarios más drásticos y desafiantes para el animal (LeBlanc, 2010). El manejo previo y el manejo en ese período determinarán que los animales se mantengan saludables. El período de transición fue establecido en el tiempo que va desde 3 semanas antes del parto a 3 semanas posteriores al mismo (Goff y Horst, 1997; Drackley, 1999). Durante ese período, las vacas lecheras experimentan un incremento en las necesidades energéticas, las cuales comienzan con el crecimiento fetal en la gestación tardía y prosiguen durante las primeras semanas luego del parto debido a los requerimientos para la lactogénesis (Drackley, 1999). Se genera un BEN debido al bajo consumo de materia seca de la vaca al final de la gestación y un rápido incremento en la producción de leche durante el posparto (Chilliard, 1999). Por otra parte, hay una reorganización de las funciones del organismo de la vaca, proceso llamado «homeorhesis», proceso que prioriza la producción de leche a expensas de los tejidos periféricos (Bauman y Currie, 1980). Esto implica que se altere la homeostasis o capacidad de que las demandas de todo el organismo estén en equilibrio (LeBlanc, 2010). Todo este movimiento endócrino metabólico se asocia a una alteración del sistema inmune (Ingvarsen y Moyes, 2015), y por consiguiente a enfermedades del periparto (LeBlanc, 2010), siendo la mastitis la de mayor impacto económico (Ruegg, 2017).

2.3 *Mastitis bovina*

La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria independientemente de la causa que la produzca y se caracteriza por diversos cambios físicos, químicos y bacteriológicos de la leche y por alteraciones patológicas en el tejido glandular (Radostitis, Gay, Blood y Hinchcliff 2002).

2.3.1 *Patogénesis*

El desarrollo de la mastitis se puede describir en tres etapas: invasión, infección e inflamación del área dañada con subsecuente destrucción del tejido alveolar.

La invasión bacteriana se produce al pasar la primera barrera de defensa de la ubre que es la piel y la punta del pezón que contiene un esfínter de músculo liso encargado de mantener el canal del pezón cerrado, el cual evita pérdidas de leche y entrada de bacterias. El canal del pezón está revestido de queratina, que a su vez está formado por ácidos grasos y proteínas, que tienen propiedades antibacterianas. Además, hay trabajos que demuestran que la queratina actúa ejerciendo un efecto físico al absorber las bacterias, reteniéndolas para luego ser expulsadas en el proceso de descamación normal por la columna de leche durante el ordeño. Luego del ordeño, el canal del pezón puede permanecer abierto durante 2 horas, exponiéndose a patógenos, y es ahí que muchas veces los microorganismos suelen evadir esta barrera. Las principales situaciones de riesgo de invasión son la colonización bacteriana de piel y canal del pezón entre los ordeños, inversión del flujo de leche durante el ordeño por deslizamiento de pezoneras o variaciones del flujo del vacío, o también por introducción de cánulas contaminadas durante el tratamiento intra-mamario.

Luego de la invasión de microorganismos, en tanto el animal no logre focalizarlos, sucede la infección, donde los patógenos se multiplican e invaden la glándula mamaria. Ese es el momento en que los microorganismos estimulan la respuesta inflamatoria de la vaca (Sordillo y Streicher, 2002). Es ahí que comienza a operar la segunda línea de defensa, la cual incluye factores humorales inespecíficos presentes en la leche o secreción de la ubre tales como: lactoferrina, inmunolactoperoxidasa, lisozima, fracciones del complemento y otros compuestos químicos (Sordillo y Streicher, 2002). Además, se presentan los mecanismos de defensa inmunológicos de tipo humoral (inmunoglobulinas y otros factores solubles) y celular (macrófagos y polimorfonucleares) y el sistema linfocitario. La cantidad de tejido infectado y el carácter de las lesiones son muy importantes para el proceso de la infección y de ello depende si el curso de la infección es subclínica o clínica. Es esta entonces, la forma de clasificar las mastitis que más se utiliza siendo la mastitis subclínica la referida a la alteración de la glándula mamaria en donde no se perciben macroscópicamente las alteraciones de la leche o la ubre, pero si se encuentra un aumento del recuento de células somáticas (RCS) en la leche. El RCS es la variable comúnmente utilizada para predecir el estatus infeccioso de un cuarto o ubre, donde habitualmente se usa el punto de corte de 200.000 células/mL como mejor predictor (Schepers, Lam, Schukken, Wilmink y Hanekamp, 1997), y en primíparas de 150.000 células/mL (Sampimon, Borne, Santman-Berends, Barkema y Lam, 2010).

La MC, es la inflamación de la glándula mamaria que repercute en alteraciones detectables a simple vista. De esta forma se las clasifica en MC leve (leche anormal sin otros síntomas), moderada (leche anormal y síntomas locales en la ubre), o grave (signos de enfermedad sistémica), (Pinzón-Sánchez

y Ruegg, 2011). Los síntomas clínicos incluyen una disminución en la producción de leche, composición y apariencia alterada (grumos) de la leche, fiebre, cuartos mamarios enrojecidos, edematosos e hipertérmicos (Ruegg, 2017).

La fase crónica proliferativa o final del proceso inflamatorio implica una disminución de actividad de síntesis y secreción de la leche, degeneración y lisis de células alveolares y reemplazo por tejido conectivo, produciendo la fibrosis de la ubre y pérdida de función (Ruegg, 2017).

2.3.2 Impacto a nivel productivo, reproductivo y descarte

La MC en las vacas lecheras tiene efectos perjudiciales conocidos sobre el bienestar animal y la rentabilidad de los rodeos (Ruegg, 2017). La mastitis bovina es una compleja y singular enfermedad, causa una gran cantidad de pérdidas económicas a nivel mundial, en especial en las regiones con una producción lechera intensiva (Carlen, Strandberg y Roth, 2004). Estudios realizados en Holanda (Van Soest, Santman-Berends, Lam y Hogeveen, 2016) sobre 108 granjas lecheras, analizaron costos directos y costos preventivos asociados a la enfermedad, concluyendo que los mismos tienen gran variabilidad, pero en promedio la mastitis tiene un costo de 240 €/vaca lactante al año. En Uruguay, la información reportada hace casi 20 años (Gianneechini, Parietti y De María, 2002) sugería una pérdida anual de U\$S 26 millones debido a esta enfermedad.

El impacto de la mastitis en la producción lechera se evidencia en la disminución del volumen y alteración de su composición, leche descartada durante los tratamientos, como el suministro de antibióticos (Larriestra et al., 2019). Los valores resumidos en la literatura para las pérdidas de producción de leche se propusieron en 375 kg para un caso clínico (5% al nivel de lactancia) y en 0,5 kg por día por aumento de 2 veces el RCS (Seegers, Fourichon y Beaudeau, 2003).

Se encontró que en las vacas que manifiestan MC durante los primeros 90 días posparto y, previa la época de servicio, se produce un aumento significativo del intervalo inter-parto y se incrementa el número de servicios por gestación (McDougall, Rhodes y Verkerk, 2005; Gunay y Gunay, 2008). Además, tienen 2,4 veces más riesgo de pérdida de la preñez (Huszenicza et al., 2005) y una menor tasa de concepción (Cha et al., 2013), independientemente de los microorganismos que la provocan.

La tasa de letalidad de la MC es muy baja en promedio, mientras que el sacrificio anticipado ocurre con mayor frecuencia después de la mastitis (riesgo relativo entre 1,5 y 5,0; Seegers et al., 2003). Algunos investigadores como Ruegg (2017), consideran que es necesario descartar las vacas con mastitis crónica ya que causan reducción de la calidad en la leche del tanque y representan una constante fuente de infección para el rodeo. La diferencia en costos entre el animal descartado y el reemplazo representa otra pérdida económica.

2.3.3 Etiología

Es importante considerar que la MC es una enfermedad multifactorial donde intervienen la relación vaca-ubre, ambiente y patógeno. Los microorganismos bacterianos son los principales responsables de las mastitis, de los cuales se han identificado aproximadamente 140 especies causantes de mastitis (Radostits et al., 2002)

2.3.3.1 Clasificación de patógenos mayores y menores

Una manera de clasificar los agentes causantes de mastitis puede ser en patógenos mayores y menores, acorde al impacto que tienen estos a nivel mamario. La mastitis causada por los patógenos mayores genera grandes cambios en la composición de la leche, incluyendo el aumento de RCS (Schepers et al., 1997), y tienen el mayor impacto económico. Entre los agentes patógenos mayores se encuentran; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), *Streptococcus* spp., *Prothotoca* spp., *Nocardia* spp., *Klebsiella* spp., coliformes, levaduras, Gram negativos no coliformes. Son considerados patógenos menores los *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) y *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*). La infección por estos microorganismos sólo causa una inflamación moderada, con aumentos de RCS de dos a tres veces más que una ubre sana. Las infecciones por patógenos menores son menos frecuentemente asociadas a casos de MC, cambios en la composición de la leche o a una disminución drástica en la producción de la misma (Harmon, 1994).

2.3.3.2 Microorganismos contagiosos

Los patógenos contagiosos se encuentran principalmente en ubres infectadas, y es principalmente durante el ordeño el momento por el cual se diseminan a las demás vacas. Los microorganismos con comportamiento normalmente contagiosos son: *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), *Streptococcus dysgalactiae* (*S. dysgalactiae*), *Corynebacterium* spp., y *Mycoplasma* spp. Estos patógenos se caracterizan por su habilidad de colonizar y crecer sobre la piel y dentro del canal del pezón de la glándula mamaria.

2.3.3.3 Microorganismos ambientales

Los patógenos ambientales como lo describe su nombre se encuentran en el medio ambiente, principalmente en el barro, estiércol, material de camas, restos de silo o heno de lo ofrecido en sus dietas, el agua estancada, agujas y cánulas de uso intramamaria contaminadas. Las bacterias más frecuentes descritas en esta categoría son *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Streptococcus* spp., como *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) y *S. dysgalactiae*, este último se puede comportar indistintamente como ambiental o contagioso (Smith y Hogan, 1993). Por su parte los SCN son un grupo de bacterias dentro de las cuales se encuentran *S. epidermis*, *S. chromogenes*, *S. hyicus*, y *S. simulans* que habitan principalmente en piel, pero también en este grupo se encuentran *S. xylosus* y *S. sciuri* que se desarrollan principalmente en ambiente. Por tal motivo los SCN no los clasificamos como contagiosos ni ambientales.

2.3.3.4 Epidemiología de los agentes causantes de mastitis en Uruguay

Estudios realizados hace más de 20 años, por Bouman, Hirigoyen y Bertón (1999) mostraban que los patógenos mayormente aislados en muestras de vacas con MC de los rodeos lecheros uruguayos fueron *Staphylococcus* spp., con una prevalencia similar entre *S. aureus* (32%) y SCN (28%). En la misma línea, Giannechini et al. (2014) indicaban que en la cuenca litoral oeste el *S. aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en los casos de MC (37,5%) mientras que, en la cuenca lechera sur, el *S. aureus* (23,1%) fue el microorganismo con mayor prevalencia seguido de *S. dysgalactiae* (14%)

Durante los años 2012 y 2013, estudios realizados por De Torres et al. (2014) describen al *S. aureus* también como el microorganismo más prevalente en muestras de leche de MC siendo su prevalencia de 34,6% en 2012 y 34,5% en 2013. El último trabajo publicado fue realizado por Larumbe y Vidart (2016), donde trabajaron sobre una base de datos de varios laboratorios que brindan servicios de bacteriología de mastitis, con muestras provenientes de Paysandú, Rio Negro, Colonia, Durazno, San José, Flores, Florida, Maldonado y Rocha. Al analizar los datos se obtuvo una distribución de patógenos en la que resultó nuevamente el *S. aureus* el patógeno más prevalente tanto para el año 2014 como para el año 2015 (27,5% y 28,8% respectivamente). Es necesario destacar que nuestro trabajo se basa en datos de incidencia de MC, realizado bajo un modelo experimental, mientras que los trabajos nacionales que se han publicado hasta el momento presentan datos de prevalencia, tanto de MC cómo la subclínica, por lo que no son comparables a la hora de concluir algún resultado.

2.4 Mastitis clínica en lactancia temprana: asociación con la categoría animal

Si bien se ha reportado que las vacas primíparas tienen un mayor riesgo de MC durante la lactancia temprana, es más frecuente en vacas multíparas teniendo en cuenta todo el ciclo productivo (Ahmadzadeh et al., 2009). La mastitis en la categoría primípara es una enfermedad preocupante ya que son vacas que nunca se han ordeñado antes y en realidad el ordeño se considera el principal factor de riesgo de mastitis contagiosa en vacas multíparas (De Vlieghe et al., 2012). También se ha descrito que, si en el período en el cual las vacas se secan y sus ubres contienen infecciones intra-mamarias, el 60% de ellas registran MC producto de ese patógeno dentro de las 2 semanas del parto y el 90% dentro de los 150 días en leche (Green, Green, Medley, Schukken y Bradley 2002). La MC varía según la edad y esas diferencias se deben a los distintos manejos y diferencias fisiológicas de los animales (McDougall, Arthur, Bryan, Vermunt, y Weir, 2007). En general en vacas primíparas los patógenos de mayor incidencia según McDougall et al. (2007), son el *S. aureus*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae* y *E. coli*. Sin embargo, algunos autores describen al grupo SCN como las bacterias más predominantes a nivel mundial tanto en primíparas como en multíparas (Makovec y Ruegg, 2003; Pitkälä, Haveri, Pyörälä, Myllys y Honkanen-Buzalski, 2004). En la categoría multíparas, se describieron además al *S. uberis* y *S. aureus* como los patógenos aislados en mayor proporción de las vacas con MC (McDougall et al., 2007).

En Uruguay no existen reportes acerca de la asociación entre la categoría animal y la MC, ni sus agentes patógenos causales.

2.5 Mastitis clínica en lactancia temprana: asociación con la condición corporal

Una de las formas de medir la cantidad de reservas energéticas almacenadas es la evaluación de la CC, éste es un indicador que se caracteriza por ser de fácil medición y de bajo costo. Es de elección antes de medir el peso vivo ya que los animales tienen distintas conformaciones corporales, pudiendo encontrar animales de igual peso pero que poseen distintos niveles de cobertura grasa. Para la evaluación de la CC, Edmonson et al. (1989) propone una escala de 5 puntos, en la cual se considera una CC óptimo a aquel establecido entre 3 y 3,5 puntos (Roche y Berry, 2006). Este rango responde a las necesidades energéticas que debe colmar la vaca en el periparto, puesto que al comenzar la lactancia más del 40% de la grasa butirosa de la leche se sintetiza a partir de las

reservas corporales movilizadas (Bell, 1995), produciendo la disminución de la CC. Animales que están por debajo del rango mencionado, serán vacas sub-condicionadas o vacas flacas que según Ingvarstsen (2006) van a ser animales que presenten una disminución en la producción de leche y estarán predisuestas a enfermedades y menor fertilidad. A su vez animales con una sobre condición (>3.5 de CC) tienen mayor probabilidad de contraer cetosis (Gillund, Reksen, Gröhn y Karlberg, 2001) la producción láctea disminuye y presentan mayores restricciones de consumo de alimento en el inicio de la lactancia agudizando el BEN. Se ha informado que la cetosis predispone a las vacas a la MC (Oltenucu y Ekesbo, 1994).

Roche et al. (2009) reportaron que las vacas sobre-condicionadas tienen más MC, y sugirieron que la alta condición está relacionada con un metabolismo energético y lipídico alterado que afecta la respuesta inmune de las vacas. Estos autores también reportaron que vacas sub-condicionadas (CC <3) tienen más mastitis cuando son comparadas con vacas con CC óptima, si bien los hallazgos son menos consistentes que para vacas sobre-condicionadas (Roche et al., 2009; Loker et al., 2012).

En nuestro país, se ha reportado que las primíparas experimentan una mayor pérdida de CC, lo que también refleja un mayor BEN, y con recuperación más lenta, que las vacas múltiparas (Meikle et al., 2004; Cavestany et al., 2005; Adrien et al., 2012). El BEN es más crítico en las primíparas porque estos animales están todavía en crecimiento, simultáneamente con la producción de leche y un menor consumo de materia seca que las múltiparas (Ingvarstsen y Andersen, 2000).

Resumiendo, el periparto es un período de grandes cambios para la vaca con grandes desafíos en su salud. La categoría animal (paridad) y la CC son variables que pueden favorecer o perjudicar estos desafíos. Por tal motivo, y sabiendo que la mastitis es la enfermedad de mayor prevalencia para los rodeos lecheros uruguayos (Cruz et al., 2021), nos planteamos determinar su incidencia acorde a la categoría animal y CC. Esta propuesta de tesis buscó estudiar la asociación entre las características mencionadas, propias de la vaca, con la ocurrencia de MC en predios comerciales de Uruguay.

3. HIPÓTESIS

La ocurrencia de MC en los primeros 30 días en lactancia difiere según la categoría animal. Tanto la sub condición como la sobre CC parto, predisponen a la ocurrencia de MC.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

El objetivo de este trabajo es contribuir al entendimiento de la epidemiología de la MC e identificar potenciales factores de riesgo en sistemas de producción de leche semi-pastoriles.

4.2 Objetivos específicos

- a) Estudiar la asociación de la categoría animal sobre la ocurrencia de MC dentro de los primeros 30 días de lactancia.
- b) Estudiar la asociación de la CC parto sobre la ocurrencia de MC dentro de los primeros 30 días de lactancia.
- c) Describir la frecuencia de patógenos causales de MC dentro de los primeros 30 días de lactancia.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por el Comité Honorario para la experimentación Animal (CEUAFVET-PI-162), Universidad de la República, Montevideo Uruguay.

5.1 Localización

El experimento se llevó a cabo en 4 tambos comerciales de San José, Florida, Río Negro, Uruguay, utilizando vacas Holstein. Todos los predios trabajan con sistemas mixtos de producción de leche, donde al menos el 40% del consumo de materia seca proviene del pastoreo, y se suplementa con dieta parcialmente mezclada.

5.2 Caracterización de los predios

Los predios 1, 3 y 4 presentan un sistema de partos estacionales, con partos concentrados en otoño y un tamaño de rodeo de ordeño de aproximadamente 1000, 850 y 600 vacas, respectivamente. El tambo 2 tiene un sistema de parto continuo durante todo el año y un tamaño del rodeo de ordeño de aproximadamente 600 vacas.

Todos los predios usaron terapia antimicrobiana al secado y frente a los casos detectados de MC. A su vez todos usaron antiséptico post-ordeño. Las vacas parto fueron ubicadas en potreros al aire libre alrededor de 3 semanas antes de la fecha esperada de parto hasta que parieron en el mismo lugar o en una subdivisión del mismo potrero en las mismas condiciones. Los partos ocurrieron del 13 de febrero al 30 de septiembre de 2018. Después del parto, las vacas se mantuvieron pastoreando al menos uno de los turnos entre los dos ordeños diarios, complementado con una dieta parcialmente mezclada.

5.3 Animales y diseño experimental

Este estudio poblacional incluyó 401 vacas primíparas (animales que fueron enrolados antes de su primer parto) y 743 vacas múltiparas (animales que fueron enrolados antes de su segundo o más partos). Se enrolaron animales clínicamente sanos. Los animales que tuvieran fiebre (temperatura rectal $> 39,5$ °C) o cualquier otro trastorno clínico fueron excluidos del estudio. Se observaron los potreros parto, con una frecuencia de dos veces por semana. Las vacas que estuvieron entre -10 y -7 días en relación a la fecha probable de parto o que presentaban signos clínicos de parto inminente, como hinchazón de la vulva y/o ubre llena, se examinaron clínicamente para descartar los criterios de exclusión mencionados.

Al momento de la inclusión de los animales (-10 a -7 días antes del parto), se evaluó la CC (1 a 5; Edmonson et al., 1989).

5.4 Definición de mastitis clínica

Para el propósito del estudio, la unidad experimental fue la vaca. El periodo de tiempo durante el cual se diagnosticó MC fue durante el primer mes de lactancia.

La MC fue diagnosticada durante cada ordeño por los ordeñadores de cada tambo, los cuales recibieron capacitación para cumplir con el protocolo específico de diagnóstico. La MC se categorizó de acuerdo a Pinzón-Sánchez y Ruegg (2011) como leve (leche anormal sin otros síntomas), moderada (leche anormal y síntomas locales en la ubre) o severa (también signos de enfermedad sistémica). Todos los casos de MC, independientemente de la gravedad, se agruparon y se reportan como MC.

5.5 Aislamientos microbianos

Los casos de MC detectados fueron sometidos a muestreo bajo los protocolos del National Mastitis Council (1999), y fueron remitidas al laboratorio Lacto Diagnóstico Sur, Colonia Cosmopolita, Colonia, Uruguay. Para el cultivo bacteriano se tomaron de cada muestra 0,10 mL de leche, luego del periodo de incubación se identificó y contabilizó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de cada una de las especies bacterianas. Se consideró que patógenos contagiosos como *S. aureus* y *S. agalactiae* causaban infección intramamaria si se aislaba una colonia (100 ufc/mL). También se consideró infección intramamaria al aislamiento de 2 colonias (200 ufc/mL) de patógenos ambientales (*E. coli*, *Streptococcus* spp., *S. agalactiae*, *Klebsiella* spp., *Pseudomona* spp., levaduras y mohos, *Prototheca* spp. y *Nocardia* spp.), o al aislamiento de 10 colonias (1000 ufc/mL) de *Corynebacterium* spp. o SCN. Si al cultivar la muestra, crecieron tres o más especies bacterianas, se la consideró muestra contaminada.

5.6 Identificación de microorganismos

Para la identificación de patógenos, el laboratorio se basó en técnicas fenotípicas donde observan el crecimiento y la morfología de las colonias, complementando con pruebas bioquímicas estandarizadas. En todos los casos, primero se realiza la siembra de 0,10 mL de leche de la muestra en una placa de Agar sangre. Se incuban durante 18 a 24 hs y posteriormente se realiza una primera lectura para detectar patógenos de crecimiento rápido, y a las 48 hs siguientes se realiza una segunda lectura para evaluar patógenos de crecimiento lento (como *Corynebacterium* spp.). Posteriormente se los clasifica según la tinción Gram. Si resulta crecimiento de Gram positivos, se buscan *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp., realizando otra serie de pruebas, incluidas reacción de la catalasa, esculina, CAMP (Christie-Atkins-Munich-Petersen), y prueba de la coagulasa que permitan describir mejor la especie que se está desarrollando. Si resulta que crecen microorganismos Gram negativos, entonces se realizan pruebas de fermentación de lactosa (Agar Mac Conkey) para detectar coliformes, observando si existen reacciones de oxidasa o de tipo mucoide. Los microorganismos no fermentadores de lactosa pueden ser *Pseudomonas* spp. o *Serratia* spp., las cuales se define la identificación mediante otras pruebas bioquímicas. Las levaduras y *Nocardia* spp. se identifican mediante frotis. Para el caso de *Mycoplasma* spp., se necesitan medios especiales para su identificación, y que en el momento el laboratorio no contaba con ello. Existen otras técnicas de identificación de microorganismos como por ejemplo técnicas moleculares mediante PCR.

5.7 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados usando el software SAS (SAS Institute Inc. 2018. SAS® University Edition, Cary, North Carolina).

El número de animales por categoría animal y CC fue generado usando el procedimiento de frecuencia (PROC FREQ). Mediante un modelo de regresión logística (PROC GLIMMIX), se evaluó la asociación entre la ocurrencia de MC en los primeros 30 días posparto por categoría animal (primípara vs multípara) y la CC preparto (sub-condición (CC < 3), óptima (CC 3-3,5), sobre-condición (CC > 3,5; Roche et al., 2009). El rodeo fue incluido como un efecto aleatorio.

La frecuencia de los aislamientos de los microorganismos clasificados en ambientales/contagiosos y mayores/menores fue generada mediante el procedimiento de frecuencia (PROC FREQ) y la comparación entre grupos se realizó con el test univariado Chi cuadrado.

Se realizaron pruebas de Tukey para la comparación de las medias, las cuales fueron consideradas diferentes cuando $P \leq 0,05$ y tendencia cuando $0,05 < P \leq 0,1$.

6. RESULTADOS

6.1 *Estadística descriptiva*

El estudio incluyó un total de 1.144 animales, de los cuales 401 fueron vacas primíparas y 743 fueron multíparas. Al momento de la inclusión, el número de lactancias en vacas multíparas fue de $2,2 \pm 1,4$ (media \pm desvío estándar). En su lactancia anterior produjeron 7.636 ± 2.273 kg de leche con una media de 21 ± 5 kg/día. La media de los días en leche al secado fue de 351 ± 82 días. El 54% de las vacas ($n = 388$) presentaron un RCS alto al secado y un 38% ($n = 276$) de las mismas tuvieron uno o más casos de MC en la lactancia previa. El intervalo de tiempo en días desde la inclusión al parto para primíparas fue de $10 \pm 9,8$ y para la categoría multíparas fue de $8,6 \pm 7,1$. En la categoría primípara se observaron 8 animales con sub CC preparto, 223 con óptima CC y 170 con sobre CC. En el caso de las vacas multíparas se contabilizaron 104 animales sub-condicionados, 497 de óptima CC y 142 sobre-condicionadas.

6.2 *Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la categoría animal y condición corporal*

En total se registraron 196 primeros casos de MC durante los primeros 30 días en leche. Se detectó una asociación de la categoría animal, así como de la CC preparto ($P = 0,02$, para ambos factores). Las medias estimadas en el modelo mostraron que las vacas primíparas registraron menos casos de MC que vacas multíparas (14,2% vs. 18,7%, respectivamente, $P = 0,02$, Figura 1). Mientras que acorde a la CC, los animales sobre-condicionados registraron más casos de MC que animales en condición óptima (19,5% vs. 14,8%, respectivamente, $P = 0,04$, Figura 2).

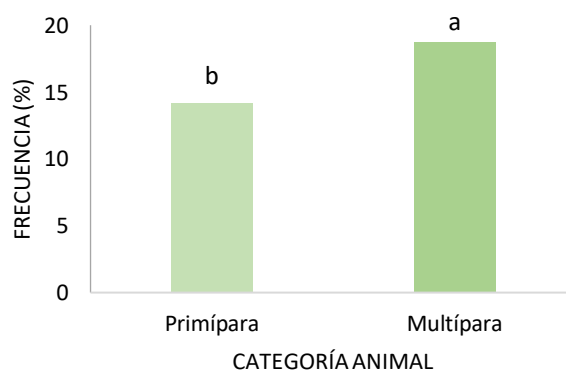


Figura 1. Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la categoría animal.

La categoría primípara, presentó un 14,2%, reportándose 57 casos en 401 animales mientras que la categoría multípara presentó un 18,7%, reportándose 139 casos en 743 animales.

Las letras (a, b) indican diferencias significativas $P \leq 0,05$.

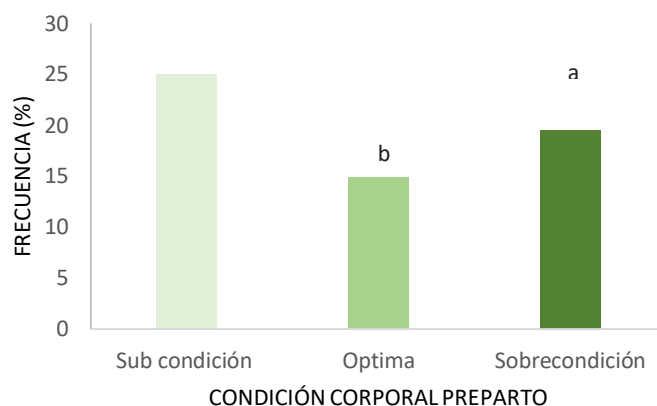


Figura 2. Ocurrencia de mastitis clínica acorde a la condición corporal preparto.

Los animales con sub-condición corporal presentaron 28 casos en 112 animales (25%); los de óptima CC presentaron 107 casos en 720 animales (14,8%); mientras que en los sobre-condicionados se presentaron 61 casos en 312 animales (19,5%).

Las letras (a y b) indican diferencias significativas $P \leq 0,05$.

6.3 Bacteriología general

Para aislamiento microbiológico se obtuvo la muestra del 66,8% ($n = 131$) de los casos totales de MC en los primeros 30 días posparto. La frecuencia de aislamientos se muestra en la Figura 3. Se constató un 26% ($n = 35/131$) de las muestras contaminadas y 15,3% ($n = 20/131$) sin desarrollo. De las muestras que produjeron un patógeno identificable ($n = 76/131$), se aisló en igual proporción *S. aureus*, *E. coli*, y *S. uberis* 15,8% ($n = 12$), cada uno de los patógenos mencionados. El grupo de SCN fue aislado en un 14,5% ($n = 11$) de las muestras, *Nocardia* spp., en un 11,8% ($n = 9$), *S. dysgalactiae* en 10,5% ($n = 8$), *S. esculina* positivo representó el 9,2% ($n = 7$) de las muestras, *Corynebacterium* spp., 3,9% ($n = 3$) y las menos aisladas fueron *Enterobacter* spp., y *Enterococcus* spp., que representaron un 1,3% ($n = 1$) cada una.

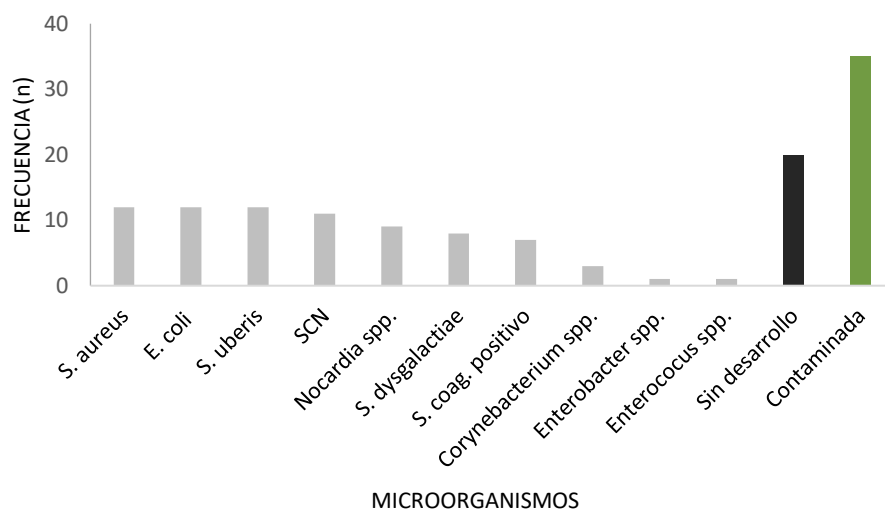


Figura 3. Frecuencia de aislamientos en muestras de vacas con mastitis clínica. (Género, especie o grupo). Las muestras sin desarrollo son aquellas que se cultivaron en el laboratorio, pero no presentan crecimiento de ningún microorganismo. n = 131. SCN: *Staphylococcus coagulasa negativo*

Para visualizar con mayor detenimiento los resultados obtenidos, la siguiente tabla detalla lo observado en los aislamientos según las clasificaciones que nos interesan en esta oportunidad.

Clasificación → Microorganismo ↓	Primíparas	Múltiparas	Sub- condicionadas	CC. óptima	Sobre- condicionadas
<i>Corynebacterium</i> spp.	0	3	0	3	0
<i>Enterobacter</i> spp.	0	1	0	0	1
<i>Enterococcus</i> spp.	0	1	0	1	0
<i>E. coli</i>	2	10	2	3	7
<i>Nocardia</i> spp.	0	9	5	2	2
<i>S. aureus</i>	5	7	0	7	5
SCN	5	6	0	6	5
<i>S. dysgalactiae</i>	1	7	1	2	5
<i>S. esculina</i> positivo no uberis	4	3	1	4	2
<i>S. uberis</i>	3	9	4	5	3
Contaminada	11	24	7	19	9
Sin desarrollo	6	14	0	12	8
TOTAL	37	94	20	64	47

Tabla 1. Descripción detallada de aislamientos según categoría animal y condición corporal preparto. SCN: *Staphylococcus coagulasa negativo*. CC: Condición corporal.

6.4.1 Patógenos ambientales y contagiosos según la categoría animal

En este trabajo consideramos como patógenos contagiosos a *Corynebacterium* spp., *S. aureus* y *S. dysgalactiae*, y, se consideró patógenos ambientales a *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Nocardia* spp., SCN, *S. esculina* positivo no *uberis* y *S. uberis*. Al analizar los aislamientos agrupados como patógenos ambientales y contagiosos encontramos una asociación ($P = 0,005$, Figura 4) acorde a la categoría animal. En vacas primíparas se encontró una ocurrencia de 30% ($n = 6$) de patógenos ambientales y un 70% ($n = 14$) de patógenos contagiosos, mientras que en multíparas se obtuvo una ocurrencia de 66.1% ($n = 37$) de patógenos ambientales y 33.9% ($n = 19$) de patógenos contagiosos.

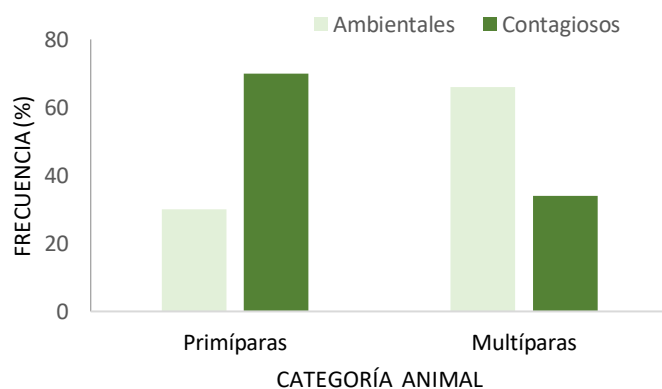


Figura 4. Frecuencia de patógenos ambientales y contagiosos acorde a la categoría animal.

En vacas primíparas se aislaron 30% de patógenos ambientales y un 70% de patógenos contagiosos, En multíparas 66.1% fueron patógenos ambientales y 33.9% patógenos contagiosos.

6.4.2 Patógenos ambientales y contagiosos según la condición corporal

Las vacas sub-condicionadas presentaron una ocurrencia de 92,3% ($n = 12$) de patógenos ambientales y 7,7% ($n = 1$) de contagiosos, las de óptima condición fue 39.4% ($n = 13$) de patógenos ambientales y 60.6% ($n = 20$) de contagiosos, mientras que las sobre condicionadas presentaron un 60% ($n = 18$) aislamientos de patógenos ambientales y 40% ($n = 12$) de patógenos contagiosos. Por considerarse únicamente animales de categoría multípara en la sub-CC preparto, esta se excluyó del análisis estadístico (se muestra a modo ilustrativo), y no se encontraron diferencias entre CC óptima y sobre condición.

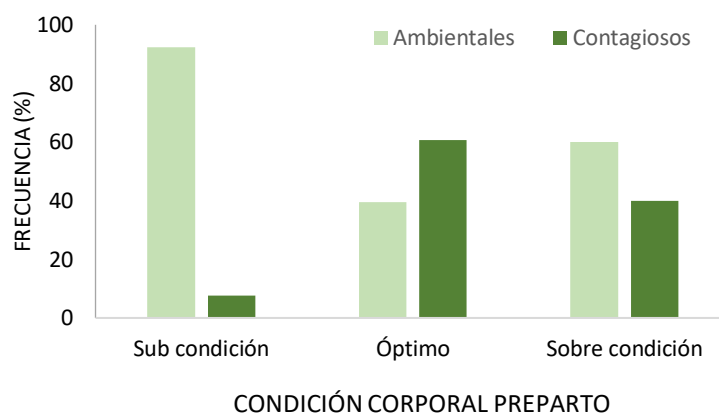


Figura 5. Frecuencia de patógenos ambientales y contagiosos acorde a la condición corporal preparto. No se encontraron diferencias significativas entre animales de óptima CC y sobre CC. La sub CC no se ha de tener en cuenta, como explica el texto.

6.4.3 Patógenos mayores y menores según categoría animal y condición corporal

Al clasificar los aislamientos obtenidos en patógenos mayores y menores, no se encontró efecto de acuerdo a la categoría animal ($P = 0,38$). La categoría primípara presentó una ocurrencia de 75% ($n = 15$) de patógenos mayores y 25% ($n = 5$) de patógenos menores. Para la categoría múltipara la ocurrencia fue de 83,9% ($n = 47$) de patógenos mayores y 16,1% ($n = 9$) de patógenos menores.

Para una CC óptima, 72,7% ($n = 24$) fueron patógenos mayores y 27,3% ($n = 9$) fueron patógenos menores. Para una sobre-CC preparto, el 83,3% ($n = 25$) de los aislamientos fueron de patógenos mayores y 16,7% ($n = 5$) de patógenos menores. La CC preparto no presentó efecto sobre la ocurrencia de patógenos mayores y menores ($P = 0,31$).

7. DISCUSIÓN

El presente estudio fue diseñado para estudiar la asociación de la ocurrencia de MC con la categoría animal y con la CC preparto en vacas lecheras en su primer mes de lactancia. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio que se realiza en nuestro país que vincula estos aspectos del animal con una de las enfermedades más importantes de los rodeos lecheros, como lo es la mastitis. Nuestro estudio también es novedoso, ya que identifica los principales patógenos que ocasiona la enfermedad y cómo estos difieren de acuerdo a la categoría animal. Esto último, puede ser clave para entender las causas, en un futuro encontrar soluciones y prevenir una de las patologías de mayor importancia en la producción lechera.

Enfocándonos en los resultados obtenidos, la frecuencia de MC de este estudio fue de 17% durante los primeros 90 días de lactancia. Cruz et al. (2021) en 13 rodeos comerciales del departamento de Florida, incluyendo 5375 vacas, reportaron una incidencia de MC de 27,6% en los primeros 90 días de lactancia. Tanto el presente estudio como el de Cruz et al. (2021), presentan ocurrencias de MC altas comparado con otros bajo sistemas de alimentación a base pastoril como Petrovski, Heuer, Parkinson y Williamson (2009) que en una temporada de lactancia reportó un 14,8%, o Sepúlveda Weary, Noro y Keyserlingk, (2015) que reporta un 11,7% de MC en el período de tres semanas posparto, incluso más que estudios en confinamiento como Meléndez et al. (2009) que muestran 14,4% el cual fue evaluado en un período de 0 a 100 días de lactancia. Si se fija como objetivo lo propuesto por Ruegg (2003), con una meta de $MC \leq 24\%$ anual, nuestros resultados y los de Cruz et al. (2021) reflejan una mala gestión de la salud de ubre en los rodeos lecheros uruguayos.

La literatura es consistente en señalar que el mayor riesgo de mastitis en las vacas lecheras se encuentra al comienzo de la lactancia (Bates y Dohoo, 2016). El estado energético de las vacas lecheras está estrechamente relacionado con el mantenimiento de una función inmunológica adecuada y esto ligado fuertemente con el desarrollo de los eventos sanitarios. Desde los trabajos de Kehrlí, Nonnecke y Roth, (1989) se ha demostrado que los cambios endócrino-metabólicos ocurridos durante el inicio de la lactancia, se traducen en una función inmune deteriorada o inmunosupresión. Se ha señalado que este detrimento durante el periparto está directamente asociado con los cambios bioquímicos procedentes de la movilización lipídica y el consecuente incremento en las concentraciones plasmáticas de NEFA y BHB en dicho período (Lacetera et al., 2004, 2005; Hammon, Evjen, Dhiman, Goff y Walters, 2006).

La ocurrencia de mastitis se vio afectada por la categoría animal y la CC preparto, en concordancia con nuestra hipótesis. Las vacas multíparas tuvieron una ocurrencia de MC mayor que la categoría primípara, en concordancia con estudios previos (Petrovski et al., 2009; Cruz et al., 2021). En tanto, Ahmadzadeh et al. (2009) plantean que el mayor riesgo de MC en la lactancia temprana lo presenta la categoría primípara, aunque evaluando toda la lactancia, la categoría multípara sería la más afectada. Según De Vlieghe et al. (2012) también son las primíparas las que tienen mayor incidencia en lactancia temprana, por lo tanto, nuestros resultados difieren de los suyos. Una de las posibles causas que podría explicar la mayor incidencia en la categoría primípara en estos estudios, son las diferencias propias del manejo de las categorías y a diferencias fisiológicas, incluido el hecho de que las primíparas están al comienzo de su primera lactancia y requerimientos propios del crecimiento. Como se mencionaba, en nuestro estudio la ocurrencia de MC fue mayor en la categoría multípara en contraposición a la primípara. Es probable, que estas diferencias puedan

deberse a un mayor riesgo de mastitis en la categoría múltipara debido a una mayor producción de leche (Ingvarsen, 2006). Por otro lado, la menor concentración de calcio observado en las vacas múltiparas durante el posparto ha sido bien establecida (Goff y Horst, 1997). En este sentido, Roche y Berry (2006) denotaron, que el descenso de concentraciones de calcio más pronunciado en la categoría múltipara, es el resultado de una mayor producción de leche, así como también de una capacidad reducida en la movilización de calcio ósea, y una disminución en el transporte intestinal del mismo. Las bajas concentraciones de calcio en la categoría múltipara podrían generar un inadecuado cierre del esfínter del pezón y un debilitamiento del sistema inmune, causas suficientes para incrementar el riesgo de mastitis (Goff, 2014). Por otro lado, el mayor tiempo de ordeño de la categoría múltipara se asocia con cambios morfométricos en la estructura del pezón, el cual se ensancha y alarga (De Vliegher et al., 2012). Además, se debe tener en cuenta que las vacas que tuvieron mastitis en la lactancia previa tienen mayor riesgo de contraer mastitis en la siguiente lactancia (Berry y Meany, 2005) y un 38% de vacas múltiparas tuvieron en la lactancia previa al estudio, por lo menos un caso de MC registrado. Investigaciones afirman que vacas que ingresan al período seco o parto con mastitis, la misma recidiva en un 60% (Green et al., 2002). Remitiéndonos a nuestro estudio, el 54% se secaron con alto RCS, lo cual puede explicar por otra parte la mayor ocurrencia de mastitis en la categoría múltipara.

La ocurrencia de MC fue afectada por la CC parto, específicamente, las vacas sobre-condicionadas durante el parto presentaron una mayor ocurrencia de MC que las vacas con una óptima condición. Como se ha mencionado previamente, en los animales sobre-condicionadas (CC >3,5), el descenso en el consumo de alimento característico del parto se exagera y da como resultado un desbalance energético más profundo, con incrementos en las concentraciones séricas de NEFA debido a una mayor lipomovilización (Roche et al., 2009, 2015). En este sentido, Gärtner, Gernand, Gottschalk y Donat, (2019), detectaron una asociación positiva de pérdida de reservas corporales y concentraciones séricas de NEFA durante el parto temprano. El aumento en las concentraciones séricas de NEFA fue seguido por el aumento de las concentraciones de BHB, reflejando el desbalance energético y la escasez de precursores neoglucogénicos (Ingvarsen y Andersen, 2000; Meikle et al., 2013).

El aumento de las demandas energéticas en conjunción con un descenso en el consumo de alimentos, genera un incremento a nivel hepático de cuerpos cetónicos como el BHB (Kuhla, Metges y Hammon, 2016). El BHB posee un efecto inhibitorio a nivel hipotalámico sobre la regulación del apetito, agravando aún más la deficiencia de ingesta y energética durante el parto temprano (Kuhla et al., 2011). Los cuerpos cetónicos liberados por el hígado actúan como fuente alternativa de energía (Drackley, Beaulieu y Elliott, 2001), lo que implica que cierta concentración de estos compuestos a nivel plasmático es parte de una adaptación fisiológica normal a las deficiencias energéticas. Sin embargo, altas concentraciones de los mismos, marcando un excesivo desbalance energético, estarían asociadas con efectos perjudiciales hacia la salud y la producción de los animales (Gillund et al., 2001; Hammon et al., 2006). En este sentido, Oltenacu y Ekesbo (1994) han informado que el incremento de cuerpos cetónicos predispone a la vaca lechera a mastitis.

Los aumentos prolongados de NEFA y BHB durante el parto representan un factor de riesgo importante para los trastornos de salud en la vaca lechera, con incrementos en la incidencia de mastitis (Heuer, Schukken y Dobbelaar 1999). En este sentido, Hammon et al. (2006) revelaron que las concentraciones de NEFA, elevadas en torno al parto, se asociaron con funciones de

neutrófilos disminuidas, como el descenso en la capacidad fagocítica, dando como resultado un estado de inmunosupresión. En este sentido, los ascensos en las concentraciones de NEFA, producto de su efecto a nivel del sistema inmune, se han relacionado como factor de riesgo de mastitis (Burton y Erskine, 2003; Moyes et al., 2009; Ospina, Nydam, Stokol y Overton, 2010). Estudios recientes a nivel nacional han revelado que concentraciones altas de NEFA previo al parto se correlacionan negativamente con el conteo de neutrófilos en el posparto temprano (Barca et al., 2021).

Las señales inflamatorias están elevadas en vacas lecheras en torno al parto, siendo esta respuesta inflamatoria no necesariamente dirigida hacia una infección. Sordillo y Raphael (2013) y Bradford, Yuan, Farney, Mamedova y Carpenter, (2015) han indicado que el ascenso en la incidencia de mastitis puede asociarse a una respuesta inflamatoria exacerbada debido principalmente a los incrementos de NEFA a nivel plasmático, propio del desbalance energético y consecuente movilización de reservas corporales (Suriyasathaporn et al., 1999; Bradford et al., 2015), incrementos en las concentraciones de NEFA posiblemente superiores en los animales sobrecondicionados. Las vacas sub-condicionadas no presentaron diferencias con las otras categorizaciones de CC. Existen hallazgos menos consistentes - respecto de vacas sobre condicionadas - de que las vacas sub-condicionadas ($CC < 3$) tengan más probabilidad de ocurrencia de mastitis cuando son comparadas con vacas con adecuada CC (Roche et al., 2009; Loker et al., 2012). Esto podría atribuirse a que la cantidad de animales incluidos en la categoría de sub-condición ($n = 112$) pudo haber sido una limitante para ello.

En nuestro estudio los patógenos aislados más frecuentemente fueron *S. aureus*, *E. coli* y *S. uberis*, los cuales se aislaron en igual proporción: 15,8%, seguidos por el grupo de SCN en un 14,5%. En tanto los trabajos nacionales realizados por Larumbe y Vidart (2016) también describen *S. aureus* (27,5% en 2014 y 28,8% en 2015) como el más frecuente de los microorganismos aislados seguidos por *S. dysgalactiae*, SCN y *E. coli* todos en mayor proporción que nuestros resultados. Giannechini et al. (2002, 2005) también coinciden con estos resultados, presentando para la región Litoral Oeste a *S. aureus* (37,5%) y *E. coli* (12,5%) como los principales microorganismos aislados y para la cuenca lechera tradicional del sur a *S. aureus* (23,1%) y *S. dysgalactiae* (14%). De todas formas, debido en parte a diferencias en el manejo de los sistemas de producción, los aislamientos bacterianos resultantes de MC varían entre países e incluso entre estudios dentro del mismo país (Olde, Barkema, Kelton y Scholl, 2008).

Del total de los casos observados de MC, el 66% de los mismos fueron muestreados, obteniendo dentro del resultado, 17% de muestras contaminadas, por lo que sólo 49% de los casos pudieron tenerse en cuenta para el estudio. En el caso de las muestras contaminadas, la National Mastitis Council, NMC (1999) establece como meta objetivo un máximo de 5% de los muestreos, por lo que la explicación radica en una mala calidad en la toma de muestra, posiblemente por dificultades de muestreo en predios comerciales. En el caso de las muestras sin desarrollo puede explicarse por curación espontánea de la infección, patrón de eliminación intermitente o la baja cantidad de bacterias viables en la muestra, (Barkema, Schukken y Zadoks, 2006) o patógenos que no crecen en medios de cultivo estándar.

Si bien esta tesis no tenía como hipótesis testear el efecto de la categoría animal o la CC preparto sobre la proporción de microorganismos, dado que para ello el número de animales debía ser sensiblemente superior, los resultados del efecto de la categoría animal son muy interesantes. Los

patógenos que más se aislaron en la categoría primípara fueron los patógenos contagiosos y en multíparas los ambientales. Esto se explica porque en primíparas los *Staphylococcus* coagulasa negativo - habitantes normales del canal del pezón- fueron los que más se encontraron en los aislamientos, por lo que sugerimos que factores de relevancia en primíparas, relacionados a la dieta, a la glándula mamaria (edema y goteo de leche), cambios asociados al manejo y a la introducción en el rodeo lechero (Fox, 2009), facilitan el crecimiento de estos patógenos menores de mastitis bovina.

La presencia de *S. aureus*, otro de los patógenos que puede explicar el mayor porcentaje de contagiosos en primíparas, podría atribuirse a el contagio vaca a vaca a través de moscas, el uso de la leche de descarte para alimentar terneras o al manejo propio de las terneras (De Vliegher et al., 2012). En el caso de las vacas multíparas, las mastitis ambientales predominantes puedan deberse a un cierre ineficiente del canal del pezón, o a una abertura del mismo durante el parto, ocasionando un incremento de las MC durante el parto y su repercusión y diagnóstico en el posparto (Schukken et al., 2011). Mientras que, en el caso de las mastitis contagiosas en esta categoría, se ven alteradas las cantidades de animales afectados por causa de las terapias de secado y eliminación de vacas con mastitis crónicas.

En cuanto al efecto de la CC parto sobre las poblaciones de patógenos ambientales y contagiosos, no se encontraron diferencias, tampoco se encontraron efectos sobre los mayores y menores. Como se describe en resultados, en la categoría de la condición sub-óptima no se encontraban animales primíparas, lo que limitó aún más el análisis, que de por sí presenta un bajo número de animales para probar la relevancia de la CC en el tipo de patógeno.

CONCLUSIONES

La categoría animal múltipara presentó mayor ocurrencia de MC dentro de los primeros 30 días de lactancia que la categoría primípara.

La sobre-condición corporal tuvo mayor ocurrencia de MC en los primeros 30 días de lactancia que animales con una CC óptima en el parto.

La ocurrencia de patógenos ambientales fue mayor en la categoría múltipara, mientras que en la categoría primípara, los patógenos contagiosos fueron los más ocurrentes.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adrien, M. L., Mattiauda, D. A., Artegoitia, V., Carriquiry, M., Motta, G., Bentancur, O., y Meikle A. (2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(2), 292-299.
- Ahmadzadeh, A., Frago, F., Shafii, B., Dalton, J. C., Price, W. J., y McGuire, M. A. (2009). Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Animal Reproduction Science*, 112(3-4), 273-282.
- Barca, J., Meikle, A., Bouman, M., Gnemmi, G., Ruiz, R., y Schukken, Y. H. (2021). Effect of pegbovigrastim on clinical mastitis and uterine disease during a full lactation in grazing dairy cows. *PLOS ONE*, 16(5), 1-17.
- Barkema, H.W, Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Beiboer M.L., Wilmink H., Benedictus G., y Brand A. (1998). Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 81(2), 411-419.
- Barkema, H.W., Schukken, Y.H., y Zadoks, R.N. (2006). Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 89(6), 1877-1895.
- Bates, A. J., y Dohoo, I. (2016). Risk factors for peri-parturient farmer diagnosed mastitis in New Zealand dairy herds: findings from a retrospective cohort study. *Preventive Veterinary Medicine*, 127, 70-76.
- Bauman, D. E., y Currie, W. B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63(9), 1514-1529.
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2804-2819.
- Berry, D. P., y Meaney, W. J. (2005). Cow factors affecting the risk of clinical mastitis. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 44, 147-156.
- Bouman, M., Hirigoyen, D., y Bertón, A. (1999). *Análisis de los resultados de 427 muestras remitidas para aislamiento de bacterias de mastitis y antibiograma*. Recuperado de Produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infeciosas/bovinos_leche/11resultados_aislamiento.pdf . Consultado el 18 de junio del 2021
- Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K., y Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 6631-6650.

- Burton, J. L., y Erskine, R. J. (2003). Immunity and mastitis some new ideas for an old disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 19(1), 1-45.
- Carlen, E., Strandberg, E., y Roth, A. (2004). Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 3062-3070.
- Cavestany, D., Blanc, J. E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilibroste, P., Meikle, A., ... Krall, E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. *Journal of Veterinary Medicine*, 52(1), 1-7.
- Cha, E., Hertl, J. A., Schukken, Y. H., Tauer, L. W., Welcome, F. L., y Gröhn, Y. T. (2013). The effect of repeated episodes of bacteriaspecific clinical mastitis on mortality and culling in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 4993-5007.
- Chilibroste, P. (2012). Estrategias de alimentación en Sistemas de Producción de Leche de base pastoril. *Cangüé* (32), 2-8.
- Chilliard, Y. (1999). Biology of Lactation. En J. Martinet, L.M. Houdebine, y H.H. Head (Eds.), *Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal* (pp. 503-552). París: INRA.
- Cruz, I., Pereira, I., Ruprecht, G., Barca, J., Meikle, A., y Larriestra, A. (2021). Clinical disease incidence during early lactation, risk factors and association with fertility and culling in grazing dairy cows in Uruguay. *Preventive Veterinary Medicine*, 191, 1-8.
- De Torres, E., Giannechini, E., Sierra, G., Zorrilla, F., Lanza, A., y Diana, V. (2014). Epidemiología de las infecciones intramamaria en Uruguay y líneas de investigación. En Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis (Ed.), *II Congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis* (Vol. II, pp. 34-37). Costa Rica: Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis.
- De Vlieghe, S., Fox, L. K., Piepers, S., McDougall, S., y Barkema, H. W. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1025-1040.
- Dirección de Estadísticas Agropecuarias. (2020). *Anuario Estadístico Agropecuario*. Recuperado de www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-estadisticas/estadisticas/anuario-estadisticas/anuario-estadistico-agropecuario-2020
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259-2273.
- Drackley, J. K., Beaulieu, A. D., y Elliott, J. P. (2001). Responses of milk fat composition to dietary fat or nonstructural carbohydrates in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1231-1237.

- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., y Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78.
- Fox, L. K. (2009). Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 82-88.
- Gärtner, T., Gernand, E., Gottschalk, J., y Donat, K. (2019). Relationships between body condition, body condition loss, and serum metabolites during the transition period in primiparous and multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 9187-9199.
- Giannechini, R., Concha, C., Delucci, I., Gil, J., Salverrey, L., y Rivero, R. (2014). Bovine mastitis, distribution of pathogens and antimicrobial resistance in the Southern Dairy Basin of Uruguay. *Veterinaria*, 50(196), 4-32.
- Giannechini, R. E., Concha, C., Rivero, R., Gil, J., Delucci, I., y Moreno, J. (2005) Dinámica de los casos de mastitis clínica en la cuenca lechera Sur de Uruguay. En Facultad de Veterinaria (Ed.), *XII Congreso Latinoamericano de Buiatría y VII Jornadas Chilenas de Buiatría* (pp. 315-316). Valdivia: Facultad de Veterinaria.
- Giannechini, R., Parietti, I., y De María, P. (2002). Evaluación de pérdidas económicas relacionadas a mastitis para establecimientos lecheros en Uruguay. INIA (Ed.), *Jornada de Lechería*, (Serie de difusión n° 287, pp. 18-29). La Estanzuela: INIA.
- Gillund, P., Reksen, O., Gröhn, Y. T., y Karlberg, K. (2001). Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(6), 1390-1396.
- Goff, J. P. (2014). Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(2), 359-381.
- Goff, J. P., y Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1260-1268.
- Green, M. J., Green, L. E., Medley, G. F., Schukken, Y. H., y Bradley, A. J. (2002). Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2589-2599.
- Gröhn, Y. T., Rajala-Schultz, P. J., Allore, H. G., DeLorenzo, M. A., Hertl, J. A., y Galligan, D. T. (2003). Optimizing replacement of dairy cows: modeling the effects of diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 61(1), 27-43.
- Gunay, A., y Gunay, U. (2008). Effects of clinical mastitis on reproductive performance in Holstein cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 77(4), 1-7.
- Harmon, R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103-2112.

- Hammon, D., Evjen, I. M., Dhiman, T. R., Goff, J. P., y Walters, J. L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113(1-2), 21-29.
- Heuer, C., Schukken, Y. H., y Dobbelaar, P. (1999). Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 82(2), 295-304.
- Huszenicza, G. Y., Jánosi, S. Z., Kulcsar, M., Korodi, P., Reiczigel, J., Katai, L., ... De Rensis, F. (2005). Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 40(3), 199-204.
- Ingvartsen, K. L. (2006). Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 175-213.
- Ingvartsen, K. L., y Andersen, J. B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1573-1597.
- Ingvartsen, K. L., y Moyes, K. M. (2015). Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 63(1), 15-24.
- Kehrli, M. E., Nonnecke, B. J., y Roth, J. A. (1989). Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *American Journal of Veterinary Research*, 50(2), 215-220.
- Kuhla, B., Metges, C. C., y Hammon, H. M. (2016). Endogenous and dietary lipids influencing feed intake and energy metabolism of periparturient dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 56, 2-10.
- Kuhla, B., Nürnberg, G., Albrecht, D., Görs, S., Hammon, H. M., y Metges, C. C. (2011). Involvement of skeletal muscle protein, glycogen, and fat metabolism in the adaptation on early lactation of dairy cows. *Journal of Proteome Research*, 10(9), 4252-4262.
- Lacetera, N., Scalia, D., Bernabucci, U., Ronchi, B., Pirazzi, D., y Nardone, A. (2005). Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2010-2016.
- Lacetera, N., Scalia, D., Franci, O., Bernabucci, U., Ronchi, B., y Nardone, A. (2004). Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 1012-1014.
- Larriestra, A., Vissio, C., y Richardet, M. (2019). Mastitis e impacto económico. Recuperado de <https://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/2019/07/Perdidas-Economicas-por-Mastitis.pdf>

- Larumbe, R., y Vidart, D. (2016). Agentes patógenos causantes de mastitis clínica en vacas lecheras en Uruguay años 2014 y 2015 (Tesis de grado). Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- LeBlanc S. J. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development*, 56, 29-35.
- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., y Leslie, K. E. (2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1267-1279.
- Loker, S., Miglior, F., Koeck, A., Neuenschwander, T. F., Bastin, C., Jamrozik, J., ... Kelton, D. (2012). Relationship between body condition score and health traits in first-lactation Canadian Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6770-6780.
- Makovec, J. A., y Ruegg, P. L. (2003). Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3466-3472.
- McDougall, S., Arthur, D. G., Bryan, M. A., Vermunt, J. J., y Weir, A. M. (2007). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *New Zealand Veterinary Journal*, 55(4), 161-170.
- McDougall, S., Rhodes, F. M., y Verkerk, G. A. (2005). Pregnancy loss in dairy cattle in the Waikato region of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 53(5), 279-287.
- Meikle, A., Cavestany, D., Carriquiry, M., Adrie, M. L., Artegoitia, V., Pereira I., ... Chilibroste P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia*, 17(1), 141-152.
- Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D., y Chilibroste, P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 127(6), 727-737.
- Meléndez, P., Marín, M. P., Robles, J., Ríos, C., Duchens, M., y Archbald, L. (2009). Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 72(6), 826-833.
- Moyes, K. M., Drackley, J. K., Salak-Johnson, J. L., Morin, D. E., Hope, J. C., y Loor, J. J. (2009). Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4301-4316.
- National Mastitis Council. (1999). *Laboratory handbook on bovine mastitis* (3^a ed.). New Prague: NMC.
- Olde, R. O., Barkema, H. W., Kelton, D. F., y Scholl, D. T. (2008). Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1366-1377.

- Oltenacu, P. A., y Ekesbo, I. (1994). Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research*, 25(2-3), 208-212.
- Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., y Overton, T. R. (2010). Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3595-3601.
- Petrovski, K. R., Heuer, C., Parkinson, T. J., y Williamson, N. B. (2009). The incidence and aetiology of clinical bovine mastitis on 14 farms in Northland, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 57(2), 109-115.
- Pinzón-Sánchez, C., y Ruegg, P. L. (2011). Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3397-3410.
- Pitkälä, A., Haveri, M., Pyörälä, S., Myllys, V., y Honkanen-Buzalski, T. (2004). Bovine mastitis in Finland 2001—prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2433-2441.
- Radostits, O., Gay, C., y Blood, D. Hinchcliff, K. (2002). *Tratados de enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino* (9ª ed., Vol. 1). Madrid: McGraw Hill-Interamericana.
- Roche, J. R., y Berry, D. P. (2006). Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2775-2783
- Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J., y Berry, D. P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5769-5801.
- Roche, J. R., Meier, S., Heiser, A., Mitchell, M. D., Walker, C. G., Crookenden, M. A., ... Kay, J. K. (2015). Effects of precalving body condition score and prepartum feeding level on production, reproduction, and health parameters in pasture-based transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7164-7182.
- Ruegg, P. L. (2003). Investigation of mastitis problems on farms. *Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 19(1), 47-73.
- Ruegg, P. L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10381-10397.
- Sampimon, O., van den Borne, B. H., Santman-Berends, I., Barkema, H. W., y Lam, T. (2010). Effect of coagulase-negative staphylococci on somatic cell count in Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Research*, 77(3), 318-324.

- SAS Institute Inc. (2018). *SAS® University Edition*. Cary: SAS.
- Schepers, A. J., Lam, T. J., Schukken, Y. H., Wilmink, J. B., y Hanekamp, W. J. (1997). Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science*, 80(8), 1833-1840.
- Schukken, Y. H., Gunther, J., Fitzpatrick, J., Fontaine, M. C., Goetze, L., Holst, O., ...Seyfert, H. M. (2011). Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144(3-4), 270-289.
- Seegers, H., Fourichon, C., y Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5), 475-491.
- Sepúlveda-Varas, P., Weary, D. M., Noro, M., y von Keyserlingk, M. A. (2015). Transition diseases in grazing dairy cows are related to serum cholesterol and other analytes. *PLOS ONE*, 10(3), 1-13.
- Smith, K. L., y Hogan, J. S. (1993). Environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(3), 489-498.
- Sordillo, L. M., y Raphael, W. (2013). Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 29(2), 267-278.
- Sordillo, L. M., y Streicher, K. L. (2002). Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(2), 135-146.
- Suriyasathaporn, W., Daemen, A. J., Noordhuizen-Stassen, E. N., Dieleman, S. J., Nielen, M. y Schukken, Y. H. (1999). β -hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 68(2-4), 177-186.
- Van Soest FJS, Santman-Berends IMGA, Lam TJGM y Hogeveen H. (2016). Failure and preventive costs of mastitis on Dutch dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 99(10):8365-8374.